

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2003-527601

(P2003-527601A)

(43)公表日 平成15年9月16日(2003.9.16)

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テ-マコード* (参考)

G 0 1 N 33/53

G 0 1 N 33/53

M 2 G 0 4 5

B 0 1 D 57/02

B 0 1 D 57/02

4 B 0 2 4

B 0 3 C 5/00

B 0 3 C 5/00

Z 4 B 0 2 9

C 1 2 M 1/00

C 1 2 M 1/00

A 4 B 0 6 3

C 1 2 N 15/09

C 1 2 Q 1/68

A 4 D 0 5 4

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 42 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-568062(P2001-568062)
(86)(22)出願日 平成13年3月8日(2001.3.8)
(85)翻訳文提出日 平成14年9月2日(2002.9.2)
(86)国際出願番号 PCT/US01/07576
(87)国際公開番号 WO01/069230
(87)国際公開日 平成13年9月20日(2001.9.20)
(31)優先権主張番号 09/522, 638
(32)優先日 平成12年3月10日(2000.3.10)
(33)優先権主張国 米国 (US)

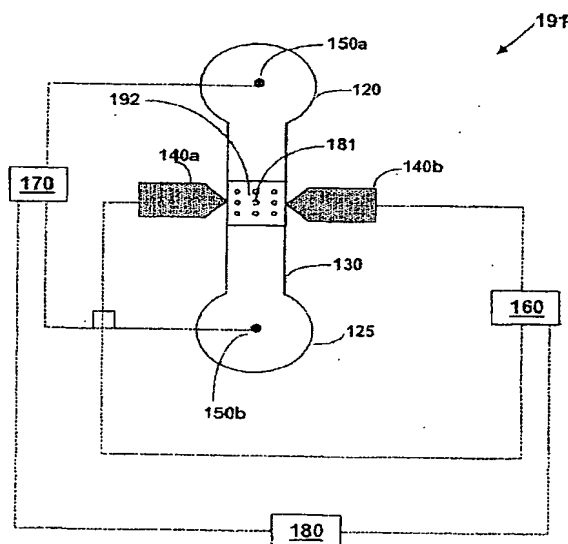
(71)出願人 アブレラ コーポレイション
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94404
フォスター シティ, リンカーン セ
ンター ドライブ 850
850 Lincoln Centre D
rive Foster City CA
LIFORNIA 94404 U. S. A.
(72)発明者 ブライニング, スピグニュー ティー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 95008,
キャンベル, リンコン アベニュー
3859
(74)代理人 弁理士 山本 秀策 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 交流電場を用いた極性分析物を配置および濃縮するための方法および装置

(57)【要約】

交流電場中で極性分析物の濃縮を実施するための方法が、開示される。この方法において、平行移動経路に沿って、この極性分析物および交流電場の相対的な平行移動が実施される。次いで、この極性分析物の一部分は、平行移動経路と交流電場との交差によって形成される濃縮区域内に捕捉され、そして濃縮される。前述の方法を実行するための種々のデバイスもまた、開示される。このデバイスは、平行移動経路、第1組みの電極、および第2組みの電極を備え、この第1組みの電極は、平行移動経路に沿った極性分析物の動電学的平行移動を引き起こすのに十分な第1電界を提供するために位置付けられ、この第2組みの電極は、平行移動経路を交差し、そして平行移動経路および交流第2電場の交差によって形成される濃縮区域に極性分析物の一部を捕捉しそして濃縮するのに十分な交流第2電場を提供するために位置付けられる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 極性分析物を配置および濃縮するための方法であって、該方法は、以下の工程：

平行移動経路に沿って該極性分析物および交流電場の相対的な平行移動を実施する工程であり、その結果、該極性分析物の一部が、該平行移動経路と該交流電場との交差によって形成される濃縮区域内に捕捉され、そして濃縮される、工程

を包含する、方法。

【請求項2】 前記極性分析物が、荷電している、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記極性分析物が、核酸を含有する、請求項2に記載の方法。

【請求項4】 前記相対的な平行移動が、前記交流電場の運動によってもたらされる、請求項1に記載の方法。

【請求項5】 前記相対的な平行移動が、前記極性分析物の運動によってもたらされる、請求項1に記載の方法。

【請求項6】 前記相対的な平行移動が、前記極性分析物の動電学的平行移動によってもたらされる、請求項5に記載の方法。

【請求項7】 時間に対する前記交流電場の電場強度のプロフィールが、矩形である、請求項1に記載の方法。

【請求項8】 1つの完全なサイクルにわたって得られた前記交流電場の、時間に対する平均総和電場強度がゼロである、請求項1に記載の方法。

【請求項9】 前記交流電場の周波数が、約10Hzと100MHzとの間である、請求項1に記載の方法。

【請求項10】 前記交流電場の周波数が、約1KHzと100KHzとの間である、請求項1に記載の方法。

【請求項11】 前記交流電場の最大電場強度が、100V/cmと100,000V/cmとの間である、請求項1に記載の方法。

【請求項12】 前記交流電場の最大電場強度が、1,000V/cmと20,000V/cmとの間である、請求項1に記載の方法。

【請求項13】 前記極性分析物が、核酸であり、そして該極性分析物の濃縮の間または濃縮後に該極性分析物と相補的な核酸との間で核酸ハイブリダイゼーション反応を行う工程をさらに包含する、請求項1に記載の方法。

【請求項14】 前記相補的な核酸が、固体支持体に結合される、請求項13に記載の方法。

【請求項15】 濃縮の間または濃縮後に、前記極性分析物を検出する工程をさらに包含する、請求項1に記載の方法。

【請求項16】 前記極性分析物の濃縮の間または濃縮後に前記濃縮区域において、該極性分析物と反応物との間で化学反応を行う工程をさらに包含する、請求項1に記載の方法。

【請求項17】 前記濃縮区域から前記極性分析物を放出する工程をさらに包含する、請求項1に記載の方法。

【請求項18】 前記濃縮区域から前記極性分析物を放出する工程後に、分析物の分離プロセスを行う工程をさらに包含する、請求項17に記載の方法。

【請求項19】 前記分析物の分離プロセスが、動電学的分離プロセスである、請求項18に記載の方法。

【請求項20】 前記動電学的分離プロセスが、電気泳動法である、請求項19に記載の方法。

【請求項21】 極性分析物を配置および濃縮するための方法であって、該方法は、以下の工程：

該極性分析物を、平行移動経路を有する細長チャンネルに配置する工程；

該平行移動経路に沿って該極性分析物の平行移動を実施する工程；

該平行移動経路と前記交流電場との交差によって形成される濃縮区域内に、該極性分析物の全てまたは一部を捕捉および濃縮するのに十分な該交流電場をもたらす工程、

を包含する、方法。

【請求項22】 極性分析物を配置および濃縮するためのデバイスであって、以下：

交流電場をもたらすための手段；

平行移動経路に沿って、該交流電場について極性分析物の相対的な平行移動を実施するための手段；

を備えるデバイスであり、

ここで、該交流電場が、該平行移動経路と該交流電場との交差によって形成される濃縮区域内に、該極性分析物の一部を捕捉および濃縮するのに十分である、デバイス。

【請求項23】 極性分析物を配置および濃縮するためのデバイスあって、以下：

平行移動経路；

該平行移動経路に沿って極性分析物を動電学的に平行移動させるのに有効な第一の電場を提供するために配置された、第一組みの電極；および、

該平行移動経路を横切り、かつ該平行移動経路と第二の交流電場との交差によって形成される濃縮区域内に、該極性分析物の一部を捕捉および濃縮するのに十分である該第二の交流電場を提供するために配置される、第二組みの電極、を備える、デバイス。

【請求項24】 極性分析物を配置および濃縮するためのデバイスであって、以下：

平行移動経路；

該平行移動経路を横切り、かつ該平行移動経路と前記交流電場との交差によって形成される濃縮区域内に位置する極性分析物の一部を捕捉および濃縮するのに十分である該交流電場を提供するために配置される、1つ以上の電極；および、

該平行移動経路に沿って、該交流電場について該極性分析物の相対的な平行移動を実施するための手段、を備える、デバイス。

【請求項25】 前記濃縮区域内に位置する物質を検出するために配置された検出器をさらに備える、請求項24に記載のデバイス。

【請求項26】 前記濃縮区域内に位置する、支持体と結合した結合相補体のアレイをさらに備える、請求項24に記載のデバイス。

【請求項27】 前記極性分析物が核酸であり、かつ前記支持体と結合した

結合相補体が、相補的な核酸である、請求項26に記載のデバイス。

【請求項28】 前記濃縮区域内に位置するフリットをさらに備え、ここで該フリットが、絶縁マトリックスから作製されている、請求項24に記載のデバイス。

【請求項29】 前記絶縁マトリックスのAC電気伝導率が、前記フリットの孔に位置する流体媒体のAC電気伝導率よりも小さい、請求項28に記載のデバイス。

【請求項30】 前記絶縁マトリックスのAC電気伝導率が、前記流体媒体のAC電気伝導率の少なくとも1/3未満である、請求項29に記載のデバイス。

【請求項31】 前記絶縁マトリックスのAC電気伝導率が、前記流体媒体のAC電気伝導率の約1/10～1/1000未満である、請求項29に記載のデバイス。

【請求項32】 前記絶縁マトリックス中に懸濁される電氣的に導電性の粒子をさらに備え、その結果、1個以上の導電性粒子を各々含む複数の電氣的に絶縁された領域が存在する、請求項28に記載のデバイス。

【請求項33】 前記濃縮区域と流体連絡する分離チャネルをさらに備える、請求項24に記載のデバイス。

【請求項34】 前記濃縮区域と熱連絡する温度制御システムをさらに備える、請求項24に記載のデバイス。

【発明の詳細な説明】**【0001】****(発明の分野)**

本発明は、交流電場を使用して極性分析物の配置および濃縮のための方法および装置に関する。

【0002】**(背景)**

分析機器の分野における最近の傾向は、複数の操作が単一のデバイスで行われる一体化微小流体デバイスの開発である（例えば、Harrisonら、「Micromachining a Miniaturized Capillary Electrophoresis-Based Chemical Analysis System on a Chip」, Science, 261: 895 (1992)）。このようなデバイスは、従来の分析形式に対して多くの利点（非常に少量を扱う能力；デバイス製造の容易さおよび経済性；単一の一体化デバイス上に複数の操作を一体化する能力；および高い程度の自動化を達成する機会を含む）を提供する。

【0003】

微小流体デバイスを使用して実行される多くの化学分析および生化学分析において、分析の一部として分析物を濃縮することが有利である。例えば、増加した分析物濃縮は、一般的に、増加した化学反応速度、質量移動の増加した速度、および向上した検出性を導く。しかし、従来の濃縮方法が固相引き出し工程（例えば、吸着）、または分析物の相変化（例えば、沈殿）、または溶媒の相変化（例えば、蒸発）を必要とするので、これらの方法は、微小流体デバイスの使用に十分に適合しない。

【0004】

さらに、分析物の配置を制御するための方法は、微小流体デバイスを使用する方法の設計において重要である。例えば、分離工程の前に、空間的に規定された注射区域内のサンプル容積を配置することが望ましくあり得る。

【0005】

従って、一体化微小流体システムにおける使用によく適した分析物の配置および濃縮のための方法を有することが望ましい。

【0006】

(要旨)

本発明は、交流電場を使用する極性分析物の配置および濃縮のための方法およびデバイスの本発明者らの発見に向けられる。

【0007】

第1の局面において、本発明は、極性分析物の濃縮のための方法を提供し、この方法は、極性分析物の一部が、平行移動経路および交流電場の交差点によって形成される濃縮区域に捕捉されそして濃縮されるように、平行移動経路に沿った極性分析物および交流電場の相対的な平行移動をもたらす工程を包含する。

【0008】

第2の局面において、本発明は、極性分析物の濃縮のためのデバイスを提供し、このデバイスは、平行移動経路、第1組みの電極、および第2組みの電極を備え、この第1組みの電極は、平行移動経路に沿った極性分析物の動電学的平行移動を引き起こすのに十分な第1電界を提供するために位置付けられ、この第2組みの電極は、平行移動経路を交差し、そして平行移動経路および交流第2電場の交差によって形成される濃縮区域に極性分析物の一部を捕捉しそして濃縮するのに十分な交流第2電場を提供するために位置付けられる。

【0009】

固相引き出し工程も極性分析物または溶媒の相変化も必要としない極性分析物の濃縮のための方法を提供することが本発明の第1の目的である。

【0010】

固相引き出し工程も極性分析物または溶媒の相変化も必要としない極性分析物の操作または配置のための方法を提供することが本発明の第2の目的である。

【0011】

手動的干渉を必要とせず、従って自動化によく適した極性分析物の濃縮または操作のための方法を提供することが本発明の第3の目的である。

【0012】

微小流体デバイスにおける使用によく適した極性分析物の濃縮または操作のための方法を提供することが本発明の第4の目的である。

【0013】

本発明は、以下の記載、図面および添付の特許請求の範囲を参照してより良く理解される。

【0014】

(好ましい実施形態の詳細な説明)

ここで、本発明の特定の好ましい実施形態に対して詳細に参照がなされ、これらの例は、添付の図面に示される。本発明を選択された好ましい実施形態とともに記載するが、これらの実施形態が、いかなるようにも本発明の範囲を限定するように意図されないことが理解される。反対に、本発明は、添付の特許請求の範囲によって決定される本発明の範囲内に含まれ得る代替物、改変体および均等物をカバーすることが意図される。さらに、本発明の開示において使用される場合、複数形および単数形は、それぞれ他方を包含するとみなされ、「または(or)」は、排他的ではなく、そして「含む(includes、including)」は、限定的ではない。

【0015】

一般的に、本発明は、極性分析物が平行移動経路および交流電場の交差によって形成される濃縮区域に濃縮されるように、極性分析物の相対的な平行移動を平行移動経路に沿って交流電場に関してもたらすことによって特定の位置に極性分析物を位置付けそして濃縮するための方法および装置を包含する。

【0016】

本発明は、極性分析物が適切な特性を有する交流電場を通過する場合に、極性分析物が交流電場によって形成される濃縮区域に捕捉されるという発見に一部基づく。この非常に予期されずかつ有益な現象についての理論的な説明は十分には理解されておらず、本発明が以下のまたは任意の他の理論的説明によっていかなるようにも限定されるようには意図されないが、この捕捉現象がWinslow効果(電気粘性(electrorheological)効果とも呼ばれる)に関連し、ここで、極性の実体が、それら自身をヘッドツーテイルで電界の線に

沿って整列させ、これによって繊維状の構造を形成する（例えば、Winslow, J. Applied Physics (1947) ; およびWinslow, 米国特許第2, 417, 850号）。

【0017】

(I. 定義)

他に述べない限り、本明細書中で使用される以下の用語および句は、以下の意味を有すると意図される。

【0018】

「平行移動経路」は、交流電場および極性分析物を潜在的に含む媒体の相対的な平行移動の結果として描かれる経路を意味する。平行移動経路は、任意の形状（例えば、直線、曲線など）を有し得る。

【0019】

「分離チャンネル」は、分離プロセス（例えば、動電学的プロセス、クロマトグラフィープロセス、または他の類似のプロセス）を行うのに使用されるチャンネルを意味する。

【0020】

「動電学的平行移動」は、電界に応答した実体の動きを意味する。例示的な動電学的平行移動プロセスは、限定しないが、電気泳動、誘電体泳動（dielectrophoresis）、電気浸透、ミセル動電クロマトグラフィー、等速回転電気泳動、および上記プロセスの組み合わせが挙げられる。

【0021】

「動電学的平行移動システム」は、極性分析物の動電学的平行移動を引き起こすのに効果的な装置を意味する。代表的には、動電学的な平行移動システムは、媒体を支持するためのチャンネル、電源、チャンネルと電氣的に連絡する一組の2つ以上の電極、および電源と2つ以上の電極との間の電氣的接続を備える。

【0022】

「双極子モーメント」は、積 $q * R$ を意味し、ここで、 q および $-q$ が、距離 R によって分離される反対の極性の電荷である。以下の議論で 사용되는ように、双極子モーメントとしては、永久双極子モーメント、有限の分極率を有する実

体の電界誘導分極から生じる双極子モーメント、実体の配向から生じる双極子モーメント（例えば、配向分極）、実体を取り囲む対イオン雰囲気電界誘導空間電荷分布から生じる双極子モーメント（例えば、Debye層）、または上記機構の任意の組み合わせから生じる双極子モーメントが挙げられる。

【0023】

「交流電場」は、大きさまたは方向が時間とともに変化するベクトルによって特徴付けられる電界を意味する。交流電場の定義には、多相電界が含まれる。交流電場の空間的範囲の限界は、交流電場の電場強度が、交流電場に関して目的の極性分析物を捕捉し、そして濃縮するのに必要とされるよりも大きい領域である。

【0024】

「極性分析物」は、双極子モーメントを有する分析物を意味する。

【0025】

（11. 方法）

図1を参照すると、好ましい実施形態において、本発明の方法は、極性分析物5の配置および濃縮に関する方法を含み、この方法は、平行移動経路10に沿った極性分析物5の相対的な平行移動を実施する工程、および平行移動経路10を横切る交流電場20で実施する工程を包含し、その結果、この極性分析物5のいくつかまたは全てが、捕捉され、そして平行移動経路10と交流電場20の交差により形成される濃縮区域30において濃縮される。

【0026】

本発明の方法における使用のための極性分析物5は、双極子モーメントを有する任意の分析物であり得る。この極性分析物は、荷電されていても、荷電されていなくてもよく、この極性分析物が、荷電されている場合、全体的に正味の電荷を有しても、中性であってもよい。好ましくは、この極性分析物は、緩衝化電解質溶液、より好ましくは、低イオン強度を有する電解質溶液中に存在する。例示的な極性分析物としては、核酸、単鎖と二重鎖との両方、タンパク質、炭水化物、ウイルス、細胞、小器官、有機ポリマー、粒子などが挙げられる。本発明の方法における使用のために、特に好ましい極性分析物は、電解質中に溶解した、単鎖

または二重鎖の核酸である。

【0027】

この平行移動経路10に沿った交流電場20に関して、極性分析物5の相対的な平行移動を実施するために使用される手段は、極性分析物を濃縮区域30に配置させ得る複数の異なる手段のいずれか、または手段の組み合わせであり得る。このような相対的な平行移動は、極性分析物5の運動、交流電場20の運動、または極性分析物5と交流電場20との両方の運動によって実施され得る。

【0028】

例えば、交流電場に関して、極性分析物の相対的な平行移動を実施するために使用される手段は、重力のみであり得る。あるいは、極性分析物5の平行移動は、選択軸の周りで、このシステム12をスピンさせることによって誘導され、平行移動経路10に沿って指向された成分を有する遠心力を与え得る。代わりに、極性分析物5は、キャピラリーの作用または他の表面媒介プロセスによって平行移動経路10に沿って移動させられ得る。あるいは、活性な水圧ポンプを使用して（例えば、従来の微少容積のシリンジポンプを使用して）圧力勾配の結果として平行移動経路に沿って極性分析物5を移動させ得る。極性分析物が磁石である、なお別の好ましい実施形態において、磁場を、（例えば、永久磁石または電磁石を使用して）平行移動経路に沿って極性分析物を平行移動させるために使用し得る。本発明のさらに好ましい実施形態において、電場を使用して、電気運動的平行移動プロセスによって極性分析物の平行移動を実施し得る。

【0029】

交流電場に関して、極性分析物の相対的な平行移動を実施するための手段を、交流電場20の運動で実施する場合、このような運動は、従来の機械学的平行移動システムに接続された移動可能なステージ上に、交流電場を形成するために使用される電極を取り付けることによって達成され得る。この機械的平行移動システムにより、電極の線形平行移動または非線形平行移動を実施し得る。このような機械的平行移動システムは、当該分野で周知である（例えば、Hunkapillerら、米国特許第4,811,218号；およびHuetonら、米国特許第5,459,325号）。例示的な機械的平行移動システムとしては、電気

機械的システム（例えば、モーターに接続された親ねじもしくはベルト伝動、圧電アクチュエーター）、または空気式システムもしくは圧力式システム（例えば、ピストン－イン－シリンダードライブシステム（piston-in-cylinder drive system））が挙げられる。一つの特に好ましい機械的平行移動システムは、コンピューター制御－DC－サーボモーター－駆動XY平行移動ステージを含む。

【0030】

平行移動経路に沿った交流電場に関して、極性分析物の相対的平行移動を実施するために使用される手段に関係なく、濃縮プロセスの間に、相対的な平行移動を実施するために使用される力は、交流電場の捕捉力を圧倒するほど強くてはならない。むしろ、平行移動経路に沿って相対的に平行移動させるために使用される力は、以下により詳細に議論されるような、濃縮区域において極性分析物を捕捉するために使用される捕捉力とバランスが保たれるべきである。

【0031】

極性分析物を捕捉するために使用される交流電場20は、極性分析物を捕捉および濃縮するために、効率的な任意の交流電場であり得る。一般に、本発明の交流電場は、時間 対 磁界強度のプロフィール、周波数、および最大の磁界強度によって特徴付けられ得る。極性分析物を捕捉するために必要とされる交流電場の特性は、複数の容易にアクセス可能な実験パラメータに依存し、このパラメータとしては、極性分析物の双極子モーメントの大きさ、支持媒体の誘電率、誘導双極子モーメントを有する極性分析物の場合、極性分析物の分極または取り囲む対イオン雰囲気挙げられる。

【0032】

交流電場の時間 対 磁界強度のプロフィールは、正弦波、鋸波、矩形、上記の重ね合わせ、周期的もしくは非周期的プロフィール、または近代的な機能発生機を使用して発生され得る任意の他のプロフィール（例えば、Model 33120A 15 MHz Function/Arbitray Waveform Generator (Agilent Technologies)）であり得る。好ましくは、交流電場の時間 対 磁界強度は、矩形である。この矩

形プロフィールが好ましい。なぜならば、高い効率性のデューティサイクルから得られる、本質的に非零電界成分を有するからである。特定の好ましい実施形態において、交流電場の時間 対 磁界強度プロフィールは、平均を、完全な1サイクルからとった、時間平均総和磁場強度が、0のプロフィールである。濃縮区域に配置された極性分析物が濃縮区域の一方向に（平行移動経路に沿ってではなく）平行移動する範囲が、最小となり、そして電極の表面で作製される電気化学的反応物（例えば、ガスの気泡）の量が減少するので、このプロフィールは、好ましい。

【0033】

交流電場の周波数は、極性分析物の一部を捕捉し得る任意の周波数である。しかし、实际的に重要な多くの極性分析物に関して、交流電場の周波数は、好ましくは、約10Hzと100メガヘルツ（MHz）との間、そしてより好ましくは、1キロヘルツ（KHz）と100KHzとの間である。

【0034】

交流電場の最大の磁場強度は、特定の適用に適切な任意の磁場強度であり得るが、交流電場のピークの磁場強度によって測定される場合、好ましくは、交流電場の最大磁場強度は、約100V/cmと10,000V/cmとの間であり、そしてより好ましくは、約1,000V/cmと20,000V/cmとの間である。

【0035】

交流電場は、空間的に均一または空間的に非均一であり得る。例えば、交流電場は、二電子的輸送を実施するために使用され得る。

【0036】

捕捉された極性分析物は、交流電場の捕捉強度を減少させるか、または交流電場に関して極性分析物の相対的な平行移動を実施するために使用される力を増加させることのいずれかによって、濃縮区域から放出され得る。交流電場の捕捉強度は、周波数、磁場強度、またはその両方を変化させることによって調節され得る。あるいは、この極性分析物は、交流電場での極性分析物の相対的な平行移動を実施するために使用される力を増加させることによって（例えば、極性分析物

の動電学的な平行移動を駆動するために使用される電場を増強させること、極性分析物の圧力駆動フローを駆動するために使用される圧力を増強させること、または交流電場の平行移動の速度を増強させることによって）、濃縮区域から放出され得る。

【0037】

好ましい実施形態において、本発明の方法に従った分析物濃縮工程に引き続いて、さらなる分析工程が、実施される。1実施形態において、極性分析物が、濃縮区域中で濃縮された後に、この極性分析物は、分析分離プロセス（例えば、動電学的分離工程またはクロマトグラフィー分離工程）に指向される。本発明の濃縮方法および局在化方法は、引き続く分析分離プロセスが電気泳動である場合に、特に利点がある。なぜならば、この分離前の濃縮工程は、増加した分離効率（例えば、減少したプレートの高さ）および分離成分の増加した検出能の両方に導く、濃縮区域および狭い注入領域を提供し得る。

【0038】

極性分析物が核酸である本発明の好ましい実施形態において、濃縮区域での分析物核酸の濃縮に引き続いてまたは濃縮の間に、この核酸分析物は、核酸ハイブリダイゼーション反応に供せられ、ここで、この濃縮核酸分析物を、続く配列特異的ハイブリダイゼーションに適した条件下で、1以上の相補的な核酸と接触させる。特定の好ましい実施形態において、この相補的な核酸は、固体支持体（例えば、1以上の強力に相補的な核酸を含む、支持体結合核酸のアレイ）に結合される。この支持体結合核酸は、合成ポリヌクレオチドプローブ（cDNA分子）または配列特異的にハイブリダイゼーションし得る、任意の他の核酸もしくは核酸アナログであり得る。支持体結合核酸の例示的なアレイは、他に記載されている（例えば、Singh-Gassonら、Nature Biotechnology, 17:974-978 (1999) ; BlanchardおよびFriend, Nature Biotechnology, 17:953 (1999) ; Brownら、米国特許第5,807,522号）。本発明のハイブリダイゼーション前の濃縮工程により、増加した速度のハイブリダイゼーション、あまり濃縮していないサンプルを使用するための能力、またはハイブリダイゼーシ

ョン反応の産物の検出能の増強がもたらされ得る。この実施形態は、核酸ハイブリダイゼーションの文脈中に記載したが、生化学的器具および分析の分野の当業者に明らかであり、この実施形態により、極性分析物を結合相補体（例えば、抗体-抗原対、レセプター-リガンド対、ビオチン-アビジン対など）と接触させる、他のプロセスに等価的に適用し得ることは、明らかである。

【0039】

本発明の方法のなお別の好ましい実施形態において、濃縮区域中の極性分析物の濃縮の間または濃縮後に、極性分析物を、検出器（例えば、蛍光検出器）を使用して検出する。この実施形態において、この検出前の濃縮工程は、極性分析物の増強した検出能に導き得、これにより、より高感度の測定、またはあまり洗練されていない検出システムもしくはあまり高価でない検出システム（例えば、レーザー誘導蛍光でなくUV吸収）を使用する機会に導く。検出を濃縮プロセス中に実施する場合、この濃縮プロセスが実時間でモニタリングされ得る。

【0040】

本発明のなお別の好ましい実施形態において、極性分析物の濃縮の間または濃縮後に、この濃縮した極性分析物を、反応物と接触させ、そして化学反応を、反応物と濃縮した極性分析物との間で実施する。このような反応としては、化学的プロセス、免疫学的プロセス、または酵素学的プロセス（例えば、分析物の標識、タンパク質の消化、DNAの消化もしくは分裂、DNA合成など）が挙げられ得る。この濃縮工程は、増加した反応速度または反応産物の増加した検出能に導き得る。

【0041】

（III デバイス）

本発明に従って、種々の好ましい方法の上記の議論に基づいて明らかであるように、広範な種々のデバイスは、この方法を実施するために構築され得る。本発明のデバイスを構築および操作するために使用される、特定のエレメント、レイアウト、寸法、材料、および実験条件は、実施される特定の方法または適用に依存して変化し得る。

【0042】

一般に、本発明のデバイスは、平行移動経路に沿った交流電場に関して、交流電場を発生させるための手段、および極性分析物の相対的な平行移動を実施するための手段を備える。このデバイスは、操作において、濃縮区域が、平行移動経路と交流電場との交差部に形成されるように構築される。本発明のいくつかの例示的なデバイスが、以下に記載される。

【0043】

図2は、本発明による例示的な微少流体濃縮および検出デバイス119の概略図を示す。このデバイス119は、分析物の充填レザバ120、平行移動チャネル130、および廃液レザバ125を備え、この分析物充填レザバ120が、平行移動チャネル130を通して、廃液レザバ125と流体連絡する。分析物充填レザバ120および廃液レザバ125の両方は、平行移動チャネル130に沿って、分析物の動電学的平行移動を実施するために、電極150aおよび150bを備える。この電極150aおよび150bは、電極150aと150bとの間に電圧差を提供するために、電源170に各々接続され、これにより、平行移動チャネル130に沿って電場を与え、平行移動チャネル130に沿って分析物の動電学的平行移動を行うのを十分ににする。このデバイス119は、平行移動チャネル130の反対サイドに配置した第2の電極の対140aおよび140bをさらに備え、平行移動チャネル130の幅を横切る交流電場を与える。電極140aおよび140bは、電極140aと140bとの間の異なる時間での電圧差を提供するために、交流場電源160に接続され、これにより、平行移動チャネル130を実質的に横切る交流電場を与える。濃縮区域181は、電極140aと140bとの間に配置される。必要に応じて、デバイス119は、位置決めされた検出器（示さず）をさらに備え、濃縮区域181に配置された材料が、検出され得る。さらに、デバイス119は、電源170に接続されたコンピュータ180、交流場電源160、およびデバイスの操作をコントロールおよびモニタリングするため、ならびにデータの取得、分析、および提示を管理するための検出器（示さず）を必要に応じてさらに備える。

【0044】

図2Bは、図2Aの191で記載されるデバイスの変形物を示し、ここで、ポ

リヌクレオチドハイブリダイゼーションアレイ192、または任意の他の支持体に結合した結合部分のアレイは、電極140aと140bとの間に位置する濃縮区域181に位置する。このハイブリダイゼーションアレイ192の位置は、アレイと接触される分析物が、この分析物からこのアレイへの質量移行の速度を増加するため、およびハイブリダイズされた分析物の検出性を増大するために、ハイブリダイゼーションの前にこのアレイに隣接した濃縮区域181で濃縮されるような位置である。

【0045】

操作中、デバイス191は、一般に、以下のように働く。平行移動チャンネル130および廃液レザバ125は、支持媒体（例えば、低イオン強度緩衝化電解質溶液）で満たされ、そして極性分析物は、分析物充填レザバ120に、例えば、従来のマイクロピペットを使用して配置される。次いで、電源170を作動して、それにより、分析物充填レザバ120から平行移動チャンネル130への分析物の界面動電的平行移動が起こる。次に、この分析物が、一般的に一对の電極140aと140bとの間に位置する濃縮区域181に達する前に、交流場電源160が作動される。この分析物が、平行移動チャンネル130を通して、この交流電場および平行移動チャンネル130の交差により形成される濃縮区域181まで平行移動する場合、極性分析物が捕捉され、そしてこの濃縮区域で濃縮される。このプロセスは、所望の量の分析物が、この濃縮区域内に位置するまで続けられる。最後に、この濃縮区域内の極性分析物の量が、検出器によって検出される。あるいは、この検出器は、濃縮プロセスの時間経過を検出するために、このプロセス全体にわたって濃縮区域をモニタリングする。または、図2Bに示されるデバイス191において、この濃縮プロセスは、極性分析物の濃度がハイブリダイゼーション工程を行うのに十分になるまで続けられる。

【0046】

図2Cは、図2Aで記載されるデバイス192の別の変形物を示し、ここで、フリットは、電極140aと140bとの間に位置する濃縮区域181に位置する。非常に予想外の有利なこの現象の理論的な説明は、十分には理解されておらず、そして本発明は以下の理論的説明または任意の他の理論的説明によっていず

れの様式でも制限されることを意図しないが、フリット193は、交流電場において空間的不均一性を生じ、これは、特定の場合、本発明の濃縮効果を増大するように働くことが発明者により考えられている。このフリット193は、流体媒体を含有する貫通孔 (through-pore) を含む多孔性構造を有し、その結果、この材料は、フリットを通して移送され得る。好ましくは、このフリットの細孔構造は、 $0.5\mu\text{m}$ と $50\mu\text{m}$ との間の有効内径を有する細孔を含む。

【0047】

一実施形態において、このフリットは、絶縁マトリクスから作製され、その結果、この絶縁マトリクスのAC電気伝導率は、このフリットの細孔内に含まれる流体媒体のAC電気伝導率より実質的に小さい。好ましくは、流体媒体の電気伝導率は、この絶縁マトリクスの電気伝導率より3倍大きく、より好ましくは、この絶縁マトリクスの電気伝導率の10倍と1000倍との間大きい。この絶縁マトリクスは、フリットに作製され得る任意の絶縁材料から形成され得る。代表的な材料としては、プラスチック、セラミックなど挙げられる。好ましくは、この絶縁マトリクスは、ポリメチルメタクリレートのようなプラスチックである。

【0048】

代替の実施形態において、このフリットは、それぞれが1つ以上の導電性粒子を含む電氣的に隔離された複数の領域が存在するように、絶縁マトリクス中に懸濁された電気導電性粒子を含む。理想的な場合では、各粒子は、この絶縁マトリクスにより全ての他の粒子から電氣的に隔離される。導電性粒子は、任意の導電性材料または半導電性材料から形成され得るが、好ましくは、この粒子は、金属性（例えば、銀、金、白金、銅など）、または半導体材料（例えば、ヒ化ガリウム）である。好ましい実施形態において、この粒子は、実質的に球形であり、そして約 $0.5\mu\text{m}$ と約 $50\mu\text{m}$ との間の直径を有する。

【0049】

本発明に従うフリットを製造するための方法は、周知である。簡潔には、1つの代表的な好ましいフリット製造手順は、以下のとおりである。1gのプレキシガラス (plexiglass) を250mlのクロロホルムに室温で溶解し、プレキシガラス／クロロホルム混合物を形成する。次に、20gの150メッシュ

ユ(99.5%)の銅ベースの銅粒子(Alpha AESAR、ストック番号10160)と、2mlのペルキシガラス/クロロホルム混合物とを混合して、粒子懸濁液を形成する。この金属粒子は、直径約2~10 μ mでなければならない。混合は、この懸濁液が均一に混合されるまで、約5分間攪拌することによって、室温で行われなければならない。フリットを形成するために、従来のピペット球を使用して、2~5mmの長さの混合物をマイクロピペット(較正カラーコード付きの使い捨ての(calibrated color coded disposable) Micropipettes、VWR Scientific、カタログ#53432-921、サイズ 100 μ l)に吸引する。この吸引した懸濁液を、約5分間部分的に乾燥させ、水で、この懸濁液を、剛性ワイヤまたはロッドを使用して、マイクロピペットにさらに押し出す。最後に、このフリットをさらに30分間室温で乾燥させる。次いで、このフリットは、インサイチュで使用され得るか、またはこのマイクロピペットから機械的に取り出され得る。

【0050】

図3Aは、本発明に従う別の代表的な微小流体(microfluidic)デバイス200の略図を示す。このデバイス200は、分析物充填レザバ205、界面動電的分離チャンネル225、および廃液レザバ210を備え、その結果、この分析物充填レザバ205は、この界面動電的分離チャンネル225を介してこの廃液レザバ210と流体連絡している。この分析物充填レザバ205および廃液レザバ210は、界面動電的分離チャンネル225に沿った極性分析物の界面動電的平行移動を行うために、それぞれ、電極215aおよび215bを備える。このデバイスは、電極220aと220bとの間に交流電場を生成するためのトラッピング電極220aおよび220bをさらに備える。電極220aおよび220bは、交流電圧電源230に連結される。このデバイスは、界面動電的分離が実質的に完了した後に、検出区域246内の極性分析物を検出するための充填レザバ205に関して、界面動電的分離チャンネル225の遠位端に位置する検出器245をさらに備える。必要に応じて、このデバイス200は、コンピュータ235を備え、このコンピュータ235は、電源230、電源240、および検

出器245に連結されて、このデバイスの作動を制御およびモニタリングし、そしてデータの獲得、分析および提示を管理する。このデバイス200は、必要に応じて、第2の交流電圧電源および一对の電極（図示せず）をさらに備え得、この一对の電極は、分離した成分の検出性をさらに増大するために、検出の前または間に、極性分析物の分離した成分を捕捉および濃縮するための検出区域246に対して近位に位置する。

【0051】

作動中、このデバイス200は、以下のように働く。第1に、界面動電的分離チャンネル225および廃液レザバ210は、この界面動電的分離チャンネル225に沿った極性分析物の界面動電的平行移動を支持し得る電解質溶液で満たされる。次いで、分析物充填レザバ205は、例えば、従来のマイクロピペットを使用して分析物で満たされる。次いで、電源240が、前方向の極性で作動されて、極性分析物の界面動電的分離チャンネル225に沿った界面動電的平行移動を開始する。さらに、電源230が作動されて、電極220aと220bとの間にほぼ位置する濃縮区域181において極性分析物を捕捉および濃縮するために使用される交流電場を確立する。必要に応じて、この濃縮区域に捕捉された分析物の量を増加させるために、電源240の極性は、この極性分析物が濃縮区域を通過して前後に平行移動するように、前方向の極性と逆方向の極性との間で循環され得る。一旦、十分な量の極性分析物がこの濃縮区域内に充填され、そして濃縮されると、電源240が逆方向の極性で作動され、それにより、捕捉されていない材料は界面動電的分離チャンネル225から引き出されて、充填レザバ205に戻る。この時点において、分析物充填レザバ205に残っている任意の分析物を取り出され、そして適切な電解質溶液と取り替えられ得る。次に、電源230が切られ、そして極性分析物の成分が検出区域246に平行移動されて、検出器245により検出されるまで、界面動電的分離プロセスが、界面動電的分離チャンネル225に沿って続けられる。

【0052】

図3Bは、本発明に従うさらに別の代表的な微量流体デバイスの略図を示す。このデバイス420は、図3Aのデバイス200の変形物であり、ここで、この

デバイス200内の単一の分析物充填レザバ205は、一对のレザバ：分析物充填レザバ405および分析物廃液レザバ410で置き換えられる。この分析物充填レザバ405は、電極400を備え、そして分析物廃液レザバ410は、電極415を備える。分析物充填レザバ405は、分岐チャネル406によって界面動電的分離チャネル225に連結され、そして分析物廃液レザバ410は、分岐チャネル407によって界面動電的分離チャネルに連結される。このデバイス420の他の要素は、図3Aのデバイス200に関して記載された通りである。

【0053】

作動中、このデバイス420は、以下のように働く。第1に、界面動電的分離チャネル225、廃液レザバ210、分岐チャネル407および406、ならびに分析物廃液レザバ410は、この界面動電的分離チャネル225に沿った極性分析物の界面動電的平行移動を支持し得る電解質溶液で満たされる。次いで、分析物充填レザバ205は、例えば、従来のマイクロピペットを使用して分析物で満たされる。次いで、電源240が、前方向の極性で作動されて、電極400と215bとの間の電位差を生成し、分岐チャネル406を通り、界面動電的分離チャネル225に沿って濃縮区域181に至る極性分析物の界面動電的平行移動を開始する。上記のように、電源230が作動されて、実質的に電極220aと220bとの間に位置する濃縮区域181において極性分析物を捕捉および濃縮するために使用される交流電場を確立する。必要に応じて、電極240の極性は、この極性分析物が濃縮区域を通して前後に平行移動するように、前方向の極性と逆方向の極性との間で循環され得る。一旦、十分な量の極性分析物がこの濃縮区域に位置して濃縮されると、この電源240が逆方向の極性で作動されて、電極415と400と215bとの間の電位差を生成し、その結果、捕捉されていない材料は、界面動電的分離チャネル225および分析物充填レザバ405から分析物廃液レザバ410へと排出される。必要に応じて、この捕捉されていない分析物を分析物廃液レザバ410に排出した後、廃液レザバに存在する分析物は、取り出され、そして適切な電解質溶液で置き換えられる。次に、電源230が切られ、そして極性分析物が検出区域246に平行移動されて、検出器245により検出されるまで、分離プロセスは、電極400と215bとの間の界面動電

的分離チャネル225に沿って続けられる。

【0054】

本発明の多くの好ましいデバイスにおいて使用される流体チャネルは、極性分析物および溶媒、または本発明の方法を実施するために必要な他の支持媒体を含むサンプルを支持し得る任意のチャネルであり得る。このチャネルは、別個（例えば、個々の毛細管）であり得るか、または一体型微小流体デバイスの一部（例えば、ガラス基板をエッチングされたチャネル）として形成され得る。好ましくは、この流体チャネルは、1つ以上の交差チャネルおよびレザバを備える一体型微小流体デバイスの一部として形成される。代表的な微小流体デバイス、およびデバイス製造のためのいくつかの代替の方法は、SoaneおよびSoane、米国特許第5,750,015号および同第5,126,022号；Manz、米国特許第5,296,114号および同第5,180,480号；Junkichira、米国特許第5,132,012号；ならびにPace、米国特許第4,908,112号に開示される。微小流体デバイスを記載している他の参考文献としては、Harrisonら、Science, 261:895 (1992)；Jacobsenら、Anal. Chem. 66:2949 (1994)；Effenhauserら、Anal. Chem. 66:2949 (1994)；およびWoolleyおよびMathies、P. N. A. S. USA, 91:11348 (1994)が挙げられる。微小製造技術の一般的な考察は、Madou、Fundamentals of Microfabrication、CRC Press、Boca Raton、FL (1997)により提供される。

【0055】

流体チャネルは、取り組まれている特定の用途に依存して、様々な構成でデバイス内に存在し得る。チャネルの内部容量は、好ましくは、約1nl～約10μlの範囲、好ましくは、約10nl～約2μlの範囲である。チャネルの長さは、一般に、約1mm～約50cmの範囲であり、通常は、約5cmと30cmとの間である。しかし、特定の用途、例えば、チャネルが界面動電的分離チャネルまたはクロマトグラフの分離チャネルとして使用される場合では、このチャネル

は100cmまでの長さまたは100cmを越える長さを有し得る。断面寸法（例えば、幅、高さ、直径）は、約 $1\mu\text{m}$ ～約 $400\mu\text{m}$ の範囲、通常は、約 $20\mu\text{m}$ ～約 $200\mu\text{m}$ の範囲である。このチャネルの断面形状は、任意の断面形状であり得、これには、円形、楕円形、矩形、台形、正方形またはそれらの形状の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。流体チャネルは、特定の用途の要件に依存して、直線構成、湾曲構成、螺旋構成、渦巻き構成、または任意の他の構成であり得る。例えば、小さな基板内で長い流体チャネルを構築することが所望される場合、渦巻き形状または蛇行形状を有するチャネルを構築することが有利であり得る。

【0056】

デバイスの流体チャネルは、チャネルの一端または両端（すなわち、いずれかの末端）に流体レザバを必要に応じて備える（通常は、備える）。レザバが備えられる場合、これらは、様々な目的（様々な流体（例えば、緩衝液、溶離液、ふるい媒体、試薬、リンス溶液または洗浄溶液）をチャネルに導入するための手段；チャネルから廃液を收容するための手段（例えば、界面動電的流路）；または電極と電解質を接触させ、イオンを供給して界面動電的プロセスを支持するための電極レザバとして、を含む）を果たし得る。一般に、このレザバは、 $1\mu\text{l}$ と $100\mu\text{l}$ との間の容量、好ましくは、約 $1\mu\text{l}$ と $10\mu\text{l}$ との間の容量を有する。このレザバが複数の流体チャネルに供給する場合、より大きなレザバが所望され得る。

【0057】

本発明のデバイスはまた、必要に応じて、分析物のデバイスへの導入を補助するためのインターフェースシステムを備え得る。例えば、この分析物が、シリンジを使用してデバイス内に導入される場合、このインターフェースシステムは、シリンジインターフェースを備え得、このシリンジインターフェースは、デバイスへのシリンジ針のガイド（例えば、分析物導入レザバ上のシールとして）として作用する。

【0058】

特定の適用に依存して、構成、デバイスが作製される材料、特定の分析物の存

在を検出するための検出領域が、デバイスに含まれ得る（例えば、図3の要素246）。例えば、好ましくは、界面動電チャネルの少なくとも1つの領域は、検出領域を含み、この検出領域は、一般的に、180nm～1500nmの範囲の波長の光、通常250～800nmの光が、低い透過損失（すなわち、約20%未満、好ましくは約5%未満）で材料を透過することを可能にする、光学的透明な材料から作製される。適切な光学的に透明な材料としては、石英ガラス（fused silica）、特定の光学的に透明なプラスチック、石英ガラス（quartz glass）、ホウケイ酸ガラスなどが挙げられる。

【0059】

本発明によるデバイスは、広範な種々の材料（ガラス、石英ガラス、熱可塑性樹脂、シリコンなど）から作製され得る。好ましくは、これらの材料は、高い絶縁破壊ポテンシャル（例えば、約100kV/cmより大きい）を有し、機械的剛性であり、極性分析物および任意の会合溶媒または媒体と化学的に適合性であり、そして低い誘電損率（1MHzで約0.05未満）を有する。一体化デバイスの種々の構成要素は、デバイスの特定の用途、経済的な関心、溶媒適合性、光学的清澄性色、機械的強度、機械的特徴、電気的特性、熱的特性などに依存して、同じまたは異なる材料から作製され得る。例えば、微小流体経路を備える平面状基板およびカバープレートは、同じ材料（例えば、ポリメチルメタクリレート（PMMA））から作製されてもよいし、または異なる材料（PMMAの基板およびガラスのカバープレート）から作製されてもよい。使い捨て一体化デバイスを有することが所望される適用において、製造の容易さおよび材料の費用に起因して、デバイスは、代表的に、プラスチックから作製される。検出および作製の容易さのために、デバイス全体が、プラスチック材料から作製され得、このプラスチック材料は、検出のために使用される光学的波長に対して光学的に透明である。また、特定の適用における興味は、電気泳動の条件下で低い表面電荷を有するプラスチックである。本発明による使い捨てデバイスの作製のために有用な特定のプラスチックとしては、ポリメチルメタクリレート、ポリカーボネート、ポリエチレンテレフタレート、ポリスチレンまたはスチレンコポリマーが挙げられるが、これらに限定されない。

【0060】

必要に応じて、デバイスを作製するために使用される材料の表面特性は、分析物-壁相互作用、電気浸透、結合特性、またはこれらの材料の任意の他の表面媒介特性を制御するために、変更され得る。この表面改変は、コーティング薬剤の共有結合、または物理的結合（例えば、イオン性、疎水性、またはvan der Waals相互作用による）に基づき得る。例示的な表面改変技術は、タンパク質のところ（例えば、Hjerten, 米国特許第4,680,201号; Cobble, Anal. Chem., 62:2478-2483 (1990); van Alstineら, 米国特許第4,690,749号; ならびにBelderおよびSchomburg, Journal of High Resolution Chromatography, 15:686-693 (1992)）に記載される。

【0061】

本発明によるデバイスは、類似のデバイスを作製するために使用される任意の好都合な手段を使用して作製され得る。本発明の好ましい実施形態において、従来の成形技術およびキャスト技術が、これらのデバイスを作製するために使用される。例えば、プラスチックから製造されるデバイスについて、シリコン鋳型マスター（これは、デバイスの平面状の基板のチャンネル構造に対して凹型である）が、エッチングまたはレーザー微細加工によって製造され得る。基板にチャンネルを形成する上昇した縁を有することに加えて、このシリカ鋳型は、レザバまたは他の流体特徴を形成するために平面状に基板にキャビティを提供し得る上昇した領域を有し得る。好都合である場合、米国特許第5,110,514号に記載される手順が使用され得る。カバープレートは、任意の好都合の手段（超音波溶接、接着剤など）によって基板にシールされ得る。

【0062】

あるいは、これらのデバイスは、以下のようなマイクロ電子コンピュータチップの製造において使用されるフォトリソグラフ技術を使用して作製され得る。最初に、ポリメチルメタクリレートカード（ほぼ従来のクレジットカードのサイズ）のような基板支持体が提供される。このカード自体の表面は、電気伝導性では

ないか、あるいは、このカードが電気伝導性ではない。カード上には、最初に、電気伝導性材料（例えば、金属）の薄層が堆積される。このコーティングは、当業者に公知の種々の異なる技術によって適用され得、そして種々の異なる型の材料（例えば、白金、金など）から構成され得る（ただし、それらは、電気を伝導することが可能であり、そして好ましくは化学的に不活性である）。この層は、好ましくは、薄い；100 Åのオーダーから、数ミクロンの厚さ。一旦、感光性の非伝導性の層が、完全に電気伝導層を覆う場合、感光性の非伝導性の層の表面に、マスクが適用される。このマスクが層を覆った後、これは、光に露光され、溶媒溶解性の感光性材料の部分と溶媒非溶解性である部分のパターンを生じる。この溶解性部分は洗い流され、そして曝露された電気伝導性材料は、ワイヤのトレースと感光性材料の不溶性部分の下のワイヤへのコネクタを残して、エッチングされる。この横たわる電気伝導性材料は、流体チャネルおよびレザバへの電極接続を提供する。不溶性材料の一部分を、電気伝導性材料から残る電気伝導性トレースの端部またはコネクタから除去することによって、電氣的接続が、流体要素への電極接続になされ得る。さらに、電極トレースは、保護コーティングによる摩耗（wear）および磨り減り（abrasion）から保護される。当業者に明らかなように、上記の保護手順において使用されるマスクは、本質的に限定されない数の、デバイスへの異なる電極接続を提供するように製造され得る。例えば、S. M. Sze, VLSI Technology, Second Edition, McGraw-Hill, New York, NY (1988) を参照のこと。

【0063】

デバイスがガラスから形成される場合、標準的なエッチング技術が使用され得る。例えば、K. Fluriら, Anal. Chem., 66:4285-4290 (1996) ; Z. FanおよびD. J. Harrison, Anal. Chem., 66:177-184 (1994)。

【0064】

あるいは、本発明のデバイスを作製するための、一般的に上に記載される、フォトリソグラフ技術または成形技術およびキャストリング技術を使用することよ

りむしろ、極端に小さく（サイズ）そして多数の電極および流体チャネル、他の作製技術（例えば、種々の型のレーザー技術および／または他の技術（例えば、極端に小さく（サイズ）そして多数の電極および流体チャネルを提供することを可能にするシルクスクリーンおよび蒸着、または積層、または押出し技術）を使用する）を使用することが可能である。

【0065】

一般に、流体チャネルは、分析物を支持するための支持媒体を含む。この媒体は、有機溶媒、緩衝溶液、ポリマー溶液、界面活性剤ミセル分散系、または生化学的分離技術に関連して一般に使用される型のゲルであり得る。好ましくは、この媒体は、低イオン強度（例えば、約100mM未満の塩、より好ましくは約10mM未満の塩）を有し、小さい誘電率（例えば、約80未満）を有する溶媒を含む。特に好ましい媒体は、絡まったポリマーの水溶液を含む。例えば、Madabhushiら、米国特許第5,567,292号。

【0066】

例えば、交流電場をもたらすために本発明のデバイスにおいて使用される電極は、従来の材料から従来の方法を使用して、作製され得る。電極製造のための例示的な方法は、フォトリソグラフィー、シルクスクリーン技術、および単純なワイヤ電極を含む。好ましくは、これらの電極を形成するために使用される材料は、電気伝導性でありそして化学的に不活性である。特に好ましい材料は、金、白金、タングステンなどである。

【0067】

交流電場をもたらすために使用される電極は、所望の寸法を有する1つの十分に規定された濃縮ゾーンを生じる電場を形成するように機能する形状を有する。図4は、いくつかの例示的な電極形状を示す；300、305、310、315および320。電極の間隔は、目的の極性分析物を捕獲するには十分に高いが、電極での過剰な気泡形成を引き起こすには高くない強さを有する電場を生成するように選択される。例えば、Washizuら、IEEE Transactions on Industry Applications, 30(4):835-843(1994)を参照のこと。一般に、電極の間の間隔は、好ましく

は約50 μ mと2mmとの間である。

【0068】

好ましくは、交流電場をもたらすために使用される電極は、平行移動経路に突出しないかまたはそうでなければ平行移動経路と物理的に接触する。むしろ、電極は、好ましくは、電極の間に生成される交流電場が平行移動経路を横切るように配置されるが、これらの電極自体は、例えば、絶縁層または伝導性ブリッジを介する電氣的接続平行移動経路から物理的に隔離されている。絶縁層を形成するために有用な例示的な材料としては、SiO₂、Al₂O₃、ポリイミン、ダイヤモンド、ガラスなどが挙げられる。平行移動経路から電極を絶縁することは、好ましい。なぜなら、それは、平行移動経路に存在する分析物または任意の他の物質によって電極が汚れるようになり得るかまたは電極表面の酸化または他の化学的変態に起因して不動態化し得る程度を最小化するように機能するからである。

【0069】

交流電場をもたらす手段は、従来の電氣的コネクタを使用する任意の交流電源を含み得る。本発明における使用に適切な例示的な交流電源は、Model 33120A 15 MHz Function/Arbitrary Waveform Generator function generator (Agilent Technologies) である。交流電場をもたらすための手段は、さらに、上記の電極および電極と交流電源との間の電氣的接続を含む。

【0070】

これらの電極は、多くの従来の技術のいずれか1つを使用して、本発明のデバイスに作製されるかまたは組込まれる。例えば、ワイヤ電極は、デバイスに機械的付着され得、電極は、積層工程またはキャストイング工程の間にデバイスに組込まれ得、電極は、プラズマ蓄積 (plasma deposition) または電気化学的堆積技術の間にデバイスに堆積され得る。

【0071】

上に議論されるように、本発明の特定の実施形態は、分析の間またはその後、分析物を検出するための検出システムを備える。任意の種類の従来の検出シス

テムが本発明とともに使用され得、これには、蛍光、放射能、光学的吸光度、蛍光偏光、電気伝導度、電気化学的特性、屈折率などを測定するためのシステムが挙げられる。特に好ましい検出システムは、レーザー励起蛍光を使用する。

【0072】

本発明の好ましい実施形態において、微小流体デバイスのチャネル、レザバ、または濃縮ゾーンは、温度制御システムを使用して、制御された温度に維持される。例えば、温度制御は、分析の再現性を増加させるか、媒体または分析物の特性を制御するか、または分析を迅速に行うために、所望され得る。好ましい温度制御システムは、加熱要素（例えば、ファンと組合せた抵抗加熱要素）、冷却要素（例えば、Peltierデバイスまたは他の従来の冷凍デバイス）、包囲された断熱チャンバ、1つ以上の温度測定センサ、およびプログラム可能なフィードバック制御装置を備え得る。好ましくは、温度制御システムは、システム全体を制御しそしてモニタリングするためのコンピュータに接続される。

【0073】

本発明のデバイスは、プロセスの特定の工程を自動化するためのロボットシステムと組合せて使用され得る。例えば、ロボットは、ハイスループットの多デバイス適用のための複数の微小デバイスを操作するために、または本発明のデバイスに分析物を導入するために、あるいはデバイスへまたはデバイスから媒体を平行移動させるために使用され得る。このようなロボットは、好ましくは、流体操作能力を有する、任意の種類の従来のラボラトリーロボットであり得る（例えば、Beckman BioMekシステム）。

【0074】

本発明の特定の実施形態において、コンピュータは、デバイスの種々の局面をモニタまたは制御するために使用され、その局面には、以下が挙げられる：デバイスの構成要素（例えば、電源、温度制御器、ポンプなど）の作動を制御すること；このデバイスと関係するシステム（例えば、ラボラトリーロボット）を制御すること；このデバイスの性能をモニタリングすること（例えば、電場の強さ、温度、または圧力を測定すること）；データ収集、データ処理、およびデータ提示活動の管理；あるいはデバイスのプログラム可能な作動のための好都合なユー

ザーインターフェースを提供すること。本発明のコンピュータは、任意の型の従来のプログラム可能な電子コンピュータ（例えば、パーソナルコンピュータ）であり得る。このコンピュータは、従来のデバイス（例えば、A/Dコンバータ）を介して、システムの他の要素に接続され得る。

【0075】

本明細書中で言及される、全ての刊行物、特許および特許出願は、各々個々の刊行物、特許または特許出願が、特定におよび個々に示され、参照として援用されるのと同程度に本明細書に参照として援用される。

【0076】

少数の実施形態が、先に詳細に記載されただけであるが、化学的装置の分野の当業者は、多くの改変が、好ましい実施形態においてその教示から逸脱することなく可能であることを明らかに理解する。そのような全ての改変は、特許請求の範囲内に包含されることが意図される。

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、本発明に従う、好ましい方法の概略的な表示である。

【図2A】

図2Aは、本発明に従う、好ましい微小流体濃縮および検出デバイスの概略的な表示である。

【図2B】

図2Bは、本発明に従う、好ましい微小流体濃縮、ハイブリダイゼーション、および検出デバイスの概略的な表示である。

【図2C】

図2Cは、濃縮区域に位置付けられたフリットを含む好ましい微小流体濃縮デバイスの概略的な表示である。

【図3A】

図3Aは、本発明に従う、好ましい微小流体濃縮および動電学的分離デバイスの概略的な表示である。

【図3B】

図3Bは、本発明に従う、代替的な好ましい微小流体濃縮および動電学的分離デバイスの概略的な表示である。

【図4】

図4は、本発明における使用に適したいくつかの例示的な電極構成の概略的な表示である。

【図1】

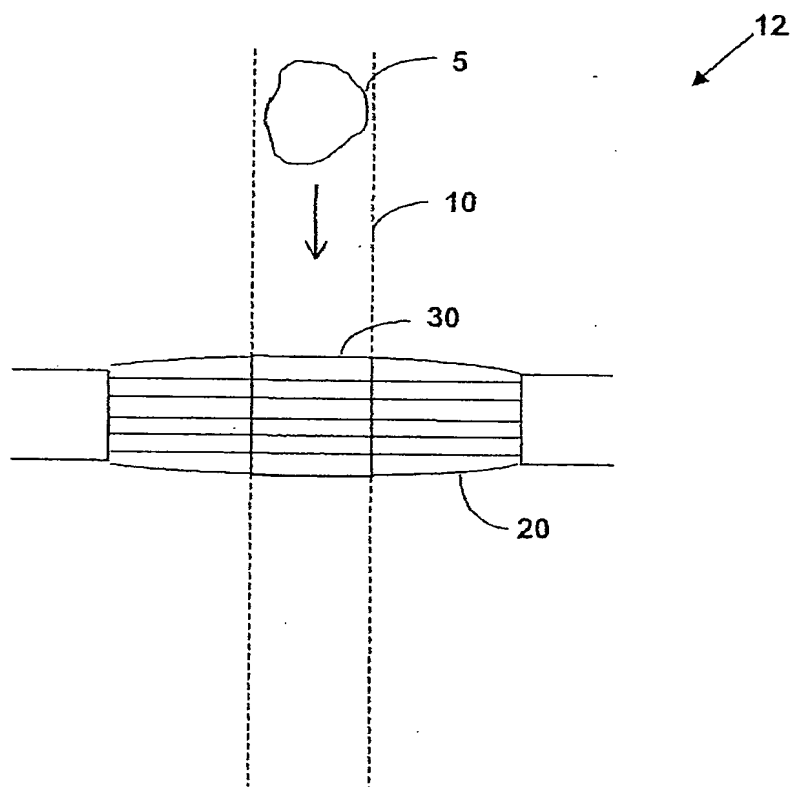


FIG. 1

【図 2 A】

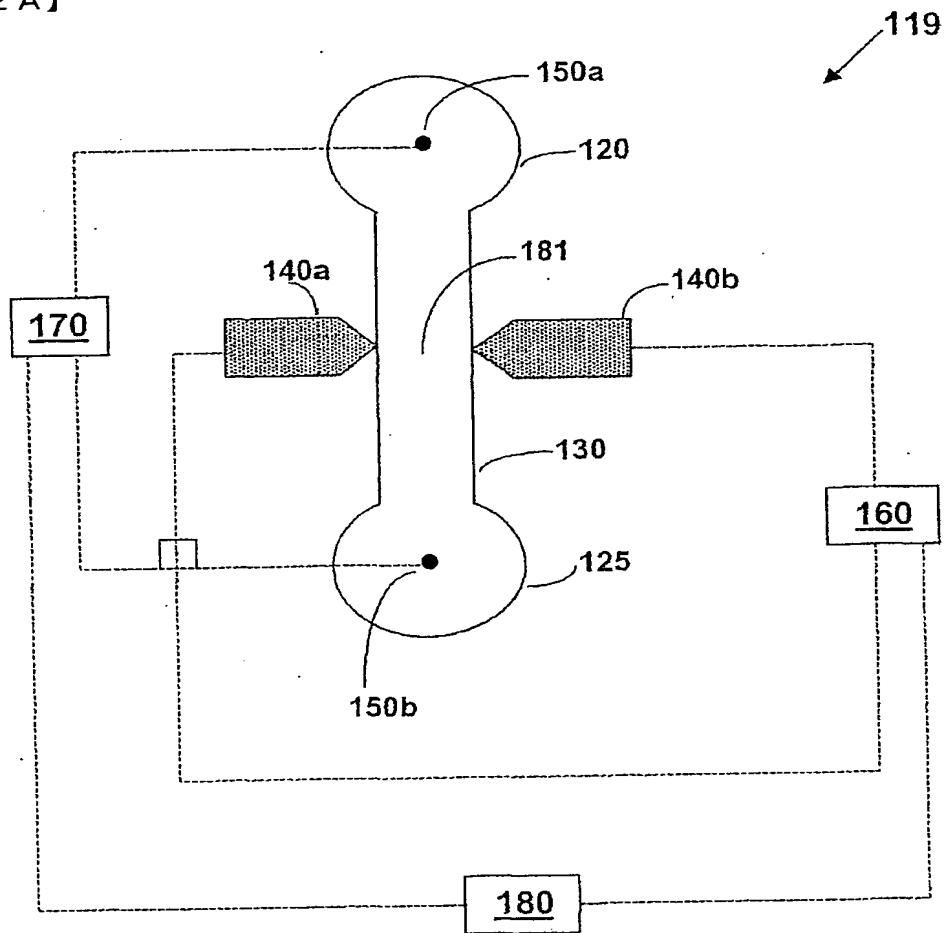


FIG. 2A

【図2B】

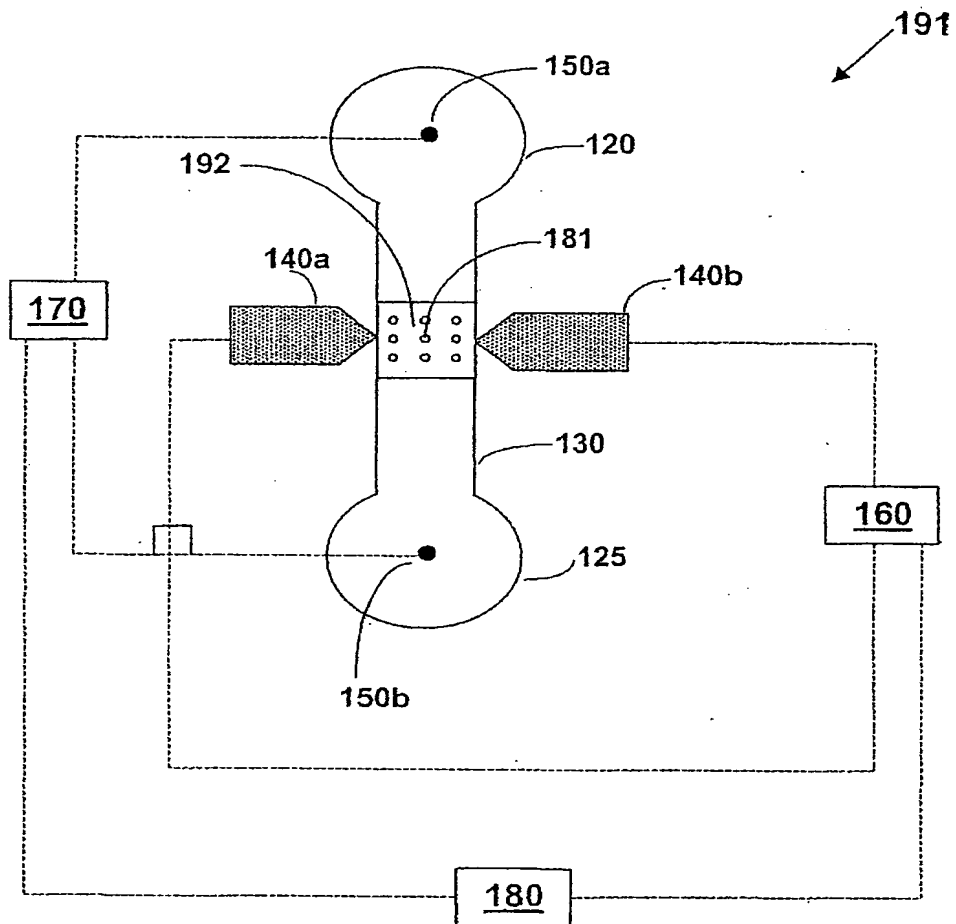


FIG. 2B

【図 2 C】

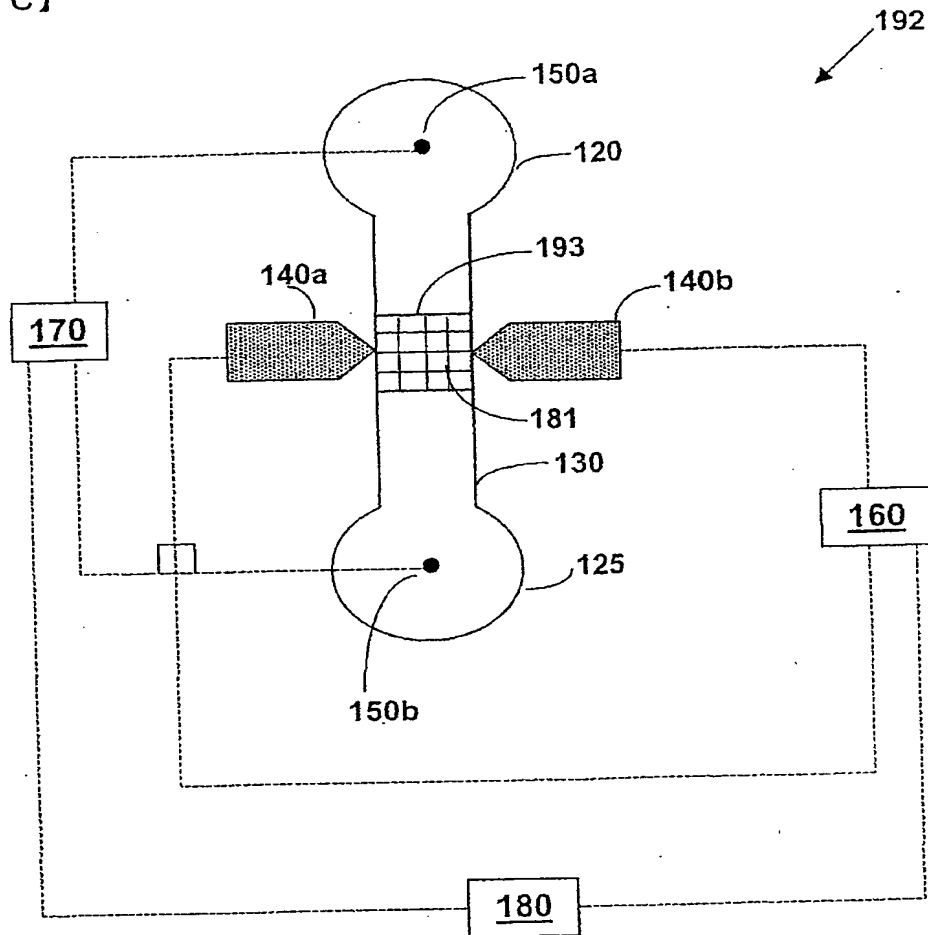


FIG. 2C

【図3A】

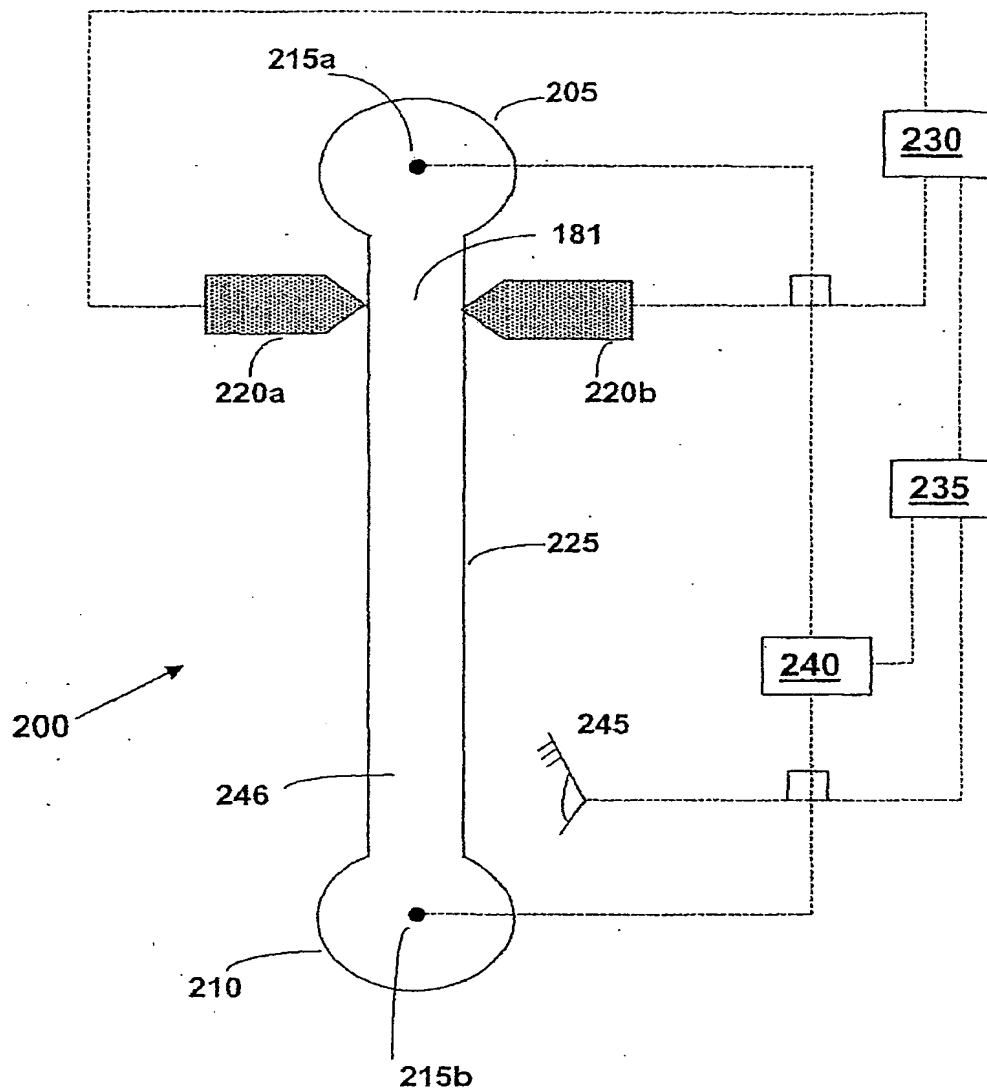


FIG. 3A

【図3B】

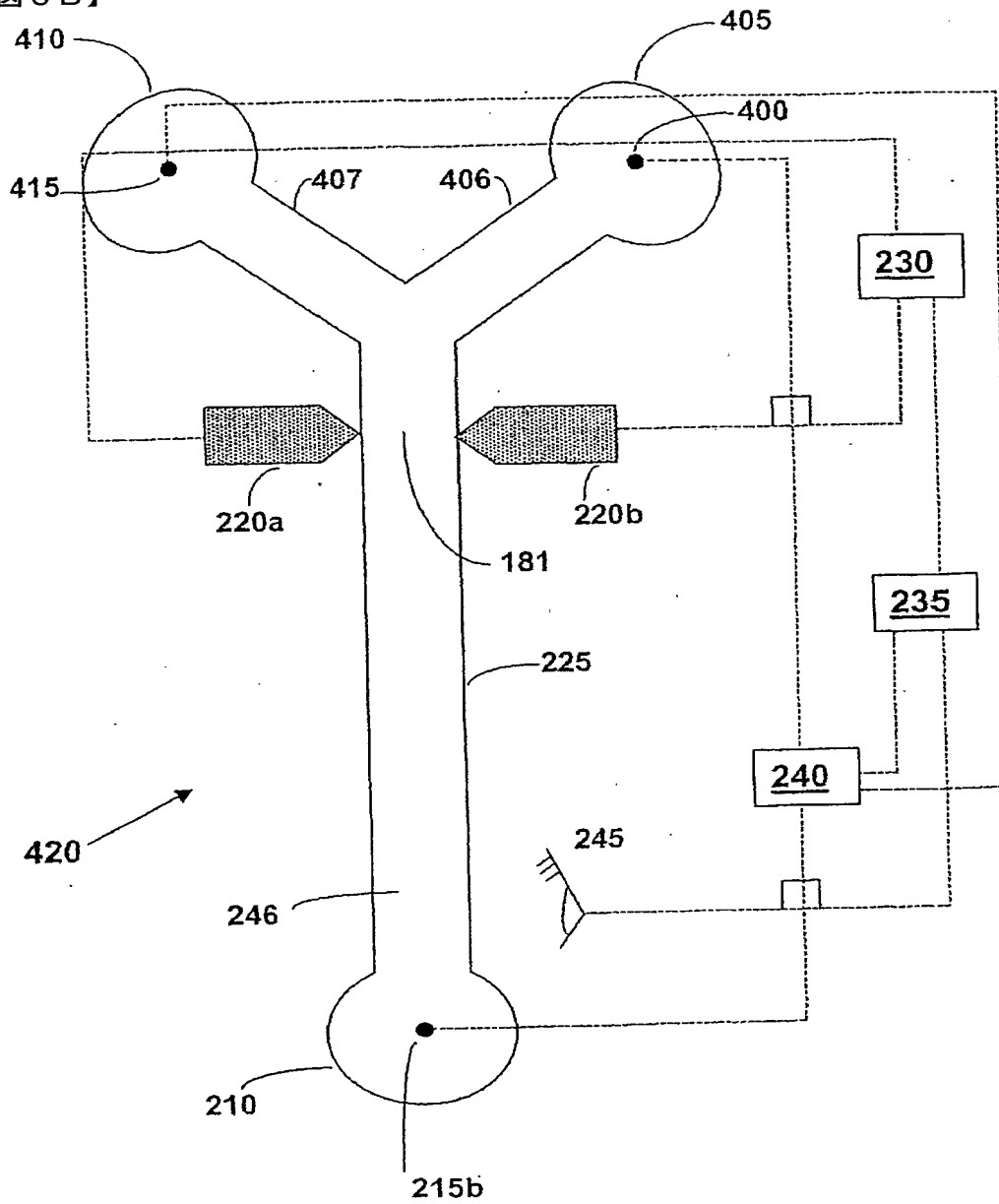


FIG. 3B

【図4】

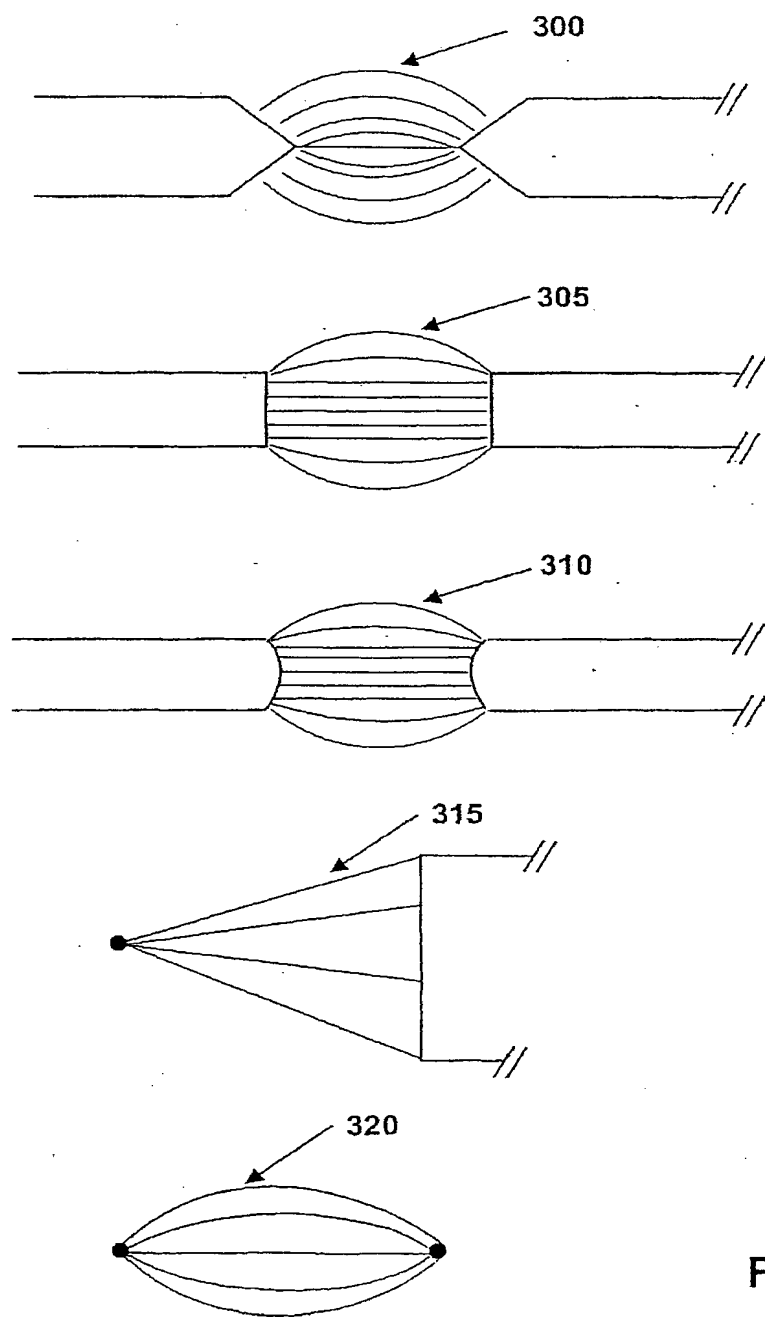


FIG. 4

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/US 01/07576

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01N27/447 B03C5/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G01N B03C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FUHR G ET AL: "POSITIONING AND MANIPULATION OF CELLS AND MICROPARTICLES USING MINIATURIZED ELECTRIC FIELD TRAPS AND TRAVELLING WAVES" SENSORS AND MATERIALS, SCIENTIFIC PUBLISHING DIVISION OF MYU, TOKYO, JP, vol. 7, no. 2, 1995, pages 131-146, XP000617698 ISSN: 0914-4935 paragraph '03.2!	1-3, 5, 9-12
Y		4-6, 13-20
Y	WO 99 63332 A (SARNOFF CORP) 9 December 1999 (1999-12-09) page 13, line 19-23; claim 1; figure 10 -/-	4

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conformity with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *A* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 April 2002

Date of mailing of the international search report

02/05/2002

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2200 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl
Fax (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Brison, O

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. Application No
 PCT/US 01/07576

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	NO 96 42013 A (MARUZZO BRUNO ; STEVENS JOHN K (CA); WATERHOUSE PAUL (CA); YAGER TH) 27 December 1996 (1996-12-27) abstract	5,6, 15-20
Y	page 10, line 20-30	23-25
Y	US 5 059 294 A (LIZARDI PAUL M) 22 October 1991 (1991-10-22) column 6, line 1-35	13,14
A		26,27
X	US 5 344 535 A (BETTS WALTER B ET AL) 6 September 1994 (1994-09-06) abstract	21,22
Y		23-25
A	WO 93 05390 A (GUZMAN NORBERTO A) 18 March 1993 (1993-03-18) page 32, line 10-19	28
X	DE 195 00 683 A (FUHR GUENTER PROF DR) 13 June 1996 (1996-06-13) abstract; claim 1	1
X	GB 2 266 153 A (BRITISH TECH GROUP) 20 October 1993 (1993-10-20) abstract page 4, line 24 -page 5, line 28	21,22
A	US 6 007 690 A (SASSI ALEXANDER P ET AL) 28 December 1999 (1999-12-28) column 5, line 65 -column 6, line 5	28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. l. Application No

PCT/US 01/07576

Patent document cited in search report		Publication date	Parent family member(s)	Publication date
WO 9963332	A	09-12-1999	AU 4546899 A WO 9963332 A1 US 6296752 B1	20-12-1999 09-12-1999 02-10-2001
WO 9642013	A	27-12-1996	AU 698921 B2 AU 6271896 A AU 702083 B2 AU 6274696 A CA 2222628 A1 CA 2226405 A1 EP 0830594 A1 EP 0830595 A1 JP 11508042 T JP 2001507441 T WO 9642012 A1 WO 9642013 A1 US 6261430 B1 US 2002029969 A1 US 6110339 A US 6176990 B1	12-11-1998 09-01-1997 11-02-1999 09-01-1997 27-12-1996 27-12-1996 25-03-1998 25-03-1998 13-07-1999 05-06-2001 27-12-1996 27-12-1996 17-07-2001 14-03-2002 29-08-2000 23-01-2001
US 5059294	A	22-10-1991	NONE	
US 5344535	A	06-09-1994	AT 118812 T AU 643731 B2 AU 6748790 A CA 2045479 A1 DE 69017195 D1 DE 69017195 T2 DK 455777 T3 EP 0455777 A1 ES 2071123 T3 FI 94646 B WO 9108284 A1 GB 2238619 A ,B JP 2987201 B2 JP 5504620 T NO 912923 A RU 2055884 C1	15-03-1995 25-11-1993 26-06-1991 28-05-1991 30-03-1995 29-06-1995 08-05-1995 13-11-1991 16-06-1995 30-06-1995 13-06-1991 05-06-1991 06-12-1999 15-07-1993 23-09-1991 10-03-1996
WO 9305390	A	18-03-1993	US 5202010 A AU 661241 B2 AU 2640192 A CA 2120251 A1 EP 0666980 A1 MX 9204974 A1 WO 9305390 A1	13-04-1993 13-07-1995 05-04-1993 18-03-1993 16-08-1995 31-05-1994 18-03-1993
DE 19500683	A	13-06-1996	DE 19500683 A1	13-06-1996
GB 2266153	A	20-10-1993	AT 176601 T AU 4076893 A CA 2118248 A1 DE 69323488 D1 DE 69323488 T2 EP 0646040 A1 ES 2127273 T3 WO 9320927 A1	15-02-1999 18-11-1993 28-10-1993 25-03-1999 24-06-1999 05-04-1995 16-04-1999 28-10-1993

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/US 01/07576

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
GB 2266153 A		JP 3182151 B2	03-07-2001
		JP 7505717 T	22-06-1995
		US 5569367 A	29-10-1996
US 6007690 A	28-12-1999	US 5770029 A	23-06-1998
		US 6074827 A	13-06-2000
		AU 744264 B2	21-02-2002
		AU 3968097 A	20-02-1998
		EP 1007953 A1	14-06-2000
		JP 2000515978 T	28-11-2000
		WO 9804909 A1	05-02-1998
		US 6344326 B1	05-02-2002
		US 6176962 B1	23-01-2001

フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7	識別記号	F I	テ-マ-コード (参考)
C 1 2 Q	1/68	G O 1 N 33/483	F
G O 1 N	27/447	33/566	
	33/483	37/00	1 0 1
	33/566	27/26	3 3 1 Z
	37/00		3 3 5 Z
	1 0 1		3 1 5 K
			3 0 1 Z
			3 3 1 F
			3 3 1 K
			3 2 5 A
		C 1 2 N 15/00	F

(81) 指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I T, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, G M, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, B Z, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, J P, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, R O, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72) 発明者 テイラー, テレサ, ビー,
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94086,
 サニーベイル, ブリスベン テラス
 104

Fターム(参考) 2G045 DA12 DA13 DA14 FB05 HA14
 4B024 AA11 AA19 CA01 CA09 CA11
 HA12 HA20
 4B029 AA07 AA23 BB20 CC03 FA15
 4B063 QA01 QQ41 QR32 QR55 QR82
 QS11 QS16 QS34 QS39
 4D054 FB12 FB20

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] It is an approach for arranging and condensing the polar analyte, and these approaches are the following processes. : Approach which is the process which carries out the relative parallel displacement of this polar analyte and alternating current electric field in accordance with a parallel displacement path, is caught in the concentration area in which this a part of polar analyte is formed of the crossover with this parallel displacement path and this alternating current electric field, and includes the process condensed.

[Claim 2] The approach according to claim 1 in which said polar analyte is carrying out electrification.

[Claim 3] The approach according to claim 2 said polar analyte contains a nucleic acid.

[Claim 4] The approach according to claim 1 to which said relative parallel displacement is brought by motion of said alternating current electric field.

[Claim 5] The approach according to claim 1 to which said relative parallel displacement is brought by motion of said polar analyte.

[Claim 6] The approach according to claim 5 to which said relative parallel displacement is brought by the electrokinetic parallel displacement of said polar analyte.

[Claim 7] The approach according to claim 1 the profile of the electric field strength of said alternating current electric field to time amount is a rectangle.

[Claim 8] The approach according to claim 1 the average total electric field strength to the time amount of said alternating current electric field obtained over one perfect cycle is zero.

[Claim 9] The approach according to claim 1 the frequency of said alternating current electric field is for about 10Hz and 100MHz.

[Claim 10] The approach according to claim 1 the frequency of said alternating current electric field is for about 1kHz and 100kHz.

[Claim 11] The approach according to claim 1 the maximum electric field strength of said alternating current electric field is between 100 V/cm and 100,000 V/cm.

[Claim 12] The approach according to claim 1 the maximum electric field strength of

said alternating current electric field is between 1,000 V/cm and 20,000 V/cm.

[Claim 13] The approach according to claim 1 said polar analyte is a nucleic acid and includes further the process which performs a nucleic-acid hybridization reaction between this polar analyte and a complementary nucleic acid between concentration of this polar analyte, or after concentration.

[Claim 14] The approach according to claim 13 by which said complementary nucleic acid is combined with a solid-state base material.

[Claim 15] The approach according to claim 1 of including further the process which detects said polar analyte between concentration or after concentration.

[Claim 16] The approach according to claim 1 of including further the process which performs a chemical reaction between this polar analyte and a reactant in said concentration area between concentration of said polar analyte, or after concentration.

[Claim 17] The approach according to claim 1 of including further the process which emits said polar analyte from said concentration area.

[Claim 18] The approach according to claim 17 of including further the process which performs the separation process of the analyte after the process which emits said polar analyte from said concentration area.

[Claim 19] The approach according to claim 18 the separation process of said analyte is an electrokinetic separation process.

[Claim 20] The approach according to claim 19 said electrokinetic separation process is an electrophoresis method.

[Claim 21] It is an approach for arranging and condensing the polar analyte, and these approaches are the following processes. : Process which arranges this polar analyte to the Sai chief channel which has a parallel translation path;

Process which carries out the parallel displacement of this polar analyte in accordance with this parallel displacement path;

How to include the process which brings about this sufficient alternating current electric field to catch and condense this all or a part of polar analyte in the concentration area formed of the crossover with this parallel displacement path and said alternating current electric field.

[Claim 22] The following [it is a device for arranging and condensing the polar analyte] : Means for bringing about alternating current electric field;

Means for carrying out the relative parallel displacement of the polar analyte about this alternating current electric field in accordance with a parallel displacement path;

It is a ***** device. Devices with this alternating current electric field enough here to catch and condense this a part of polar analyte in the concentration area formed of the crossover with this parallel displacement path and this alternating current electric field.

[Claim 23] It is the following as device ** for arranging and condensing the polar analyte. : Parallel displacement path;

Have been arranged in order to offer the first electric field effective in carrying out the parallel displacement of the polar analyte electrokinetically in accordance with this parallel displacement path. The electrode constructed for a start; it reaches. In the concentration area which crosses this parallel displacement path and is formed of the crossover with this parallel displacement path and the second alternating current electric field catching and condensing this a part of polar analyte -- enough -- coming out -- being certain -- this -- the [which is arranged in order to offer the second alternating current electric field] -- a device equipped with the electrode constructed two.

[Claim 24] The following [it is a device for arranging and condensing the polar analyte] : Parallel displacement path;

One or more electrodes arranged in order to come out of a part of polar analyte located in the concentration area which crosses this parallel displacement path and is formed of the crossover with this parallel displacement path and said alternating current electric field to catching and condensing enough and to offer a certain alternating current electric field of this; it reaches. Device equipped with the means for carrying out the relative parallel displacement of this polar analyte about this alternating current electric field in accordance with this parallel displacement path.

[Claim 25] The device according to claim 24 further equipped with the detector arranged in order to detect the matter located in said concentration area.

[Claim 26] The device according to claim 24 further equipped with the array of the binder phase complement combined with the base material located in said concentration area.

[Claim 27] The device according to claim 26 said whose polar analyte is a nucleic

acid and whose binder phase complement combined with said base material is a complementary nucleic acid.

[Claim 28] The device according to claim 24 with which it has further the frit located in said concentration area, and this frit is produced from the insulating matrix here.

[Claim 29] A device according to claim 28 with AC conductivity of said insulating matrix smaller than AC conductivity of the fluid medium located in the hole of said frit.

[Claim 30] The device according to claim 29 whose AC conductivity of said fluid medium AC conductivity of said insulating matrix is less than 1/3 at least.

[Claim 31] The device according to claim 29 whose AC conductivity of said insulating matrix is less than about 1 of AC conductivity of said fluid medium / ten to 1/1000.

[Claim 32] The device according to claim 28 with which the field insulated electrically [the plurality suspended in said insulating matrix] are further equipped with a conductive particle electrically, consequently contains one or more conductive particles respectively exists.

[Claim 33] The device according to claim 24 further equipped with the separation channel which carries out fluid communication with said concentration area.

[Claim 34] The device according to claim 24 further equipped with the climate control system which carries out heat communication with said concentration area.